BONPLANDIA 24(1): 57-62. 2015
ISSN: 0524-0476

PRIMEROS ESTUDIOS CARIOTÍPICOS EN *MIMOSA FARINOSA* Y *M. VELLOZIANA* (LEGUMINOSAE, MIMOSOIDEAE)

MATÍAS MORALES[1,2,3,5], ARTURO F. WULFF [3,4], RENÉE H. FORTUNATO[1,2,3] & LIDIA POGGIO [3,4]

Summary: Morales, M., A. F. Wulff, R. H. Fortunato & L. Poggio. 2015. First karyotype studies in *M. farinosa* and *M. velloziana* (Leguminosae, Mimosoideae). Bonplandia 24(1): 57-62.

The first karyotype studies in *Mimosa farinosa* and *M. velloziana* are presented. The chromosome number of *M. farinosa*, 2n = 2x = 26 (*Mimosa* section *Batocaulon* series *Farinosae*) is mentioned for the first time, while the chromosome number of *M. velloziana* var. *velloziana*, 2n = 4x = 52 (*Mimosa* section *Mimosa* series *Mimosa* subseries *Mimosa*) is confirmed. The formula and parameters of karyotype (chromosome length and A1 and A2 asymmetry indexes) were analyzed. The karyotype formula of *M. farinosa* (16m+10sm) and *M. velloziana* var. *velloziana* (48m+4sm) were calculated. *Mimosa farinosa* has a more asymmetric karyotype and larger chromosome size than *M. velloziana* var. *velloziana*. A1 index, total chromosome length, and chromosome length per haploid genome showed significant differences between the two taxa. These results agree with differences previously found among other members of series *Farinosae* and subseries *Mimosa*, suggesting that certain karyotype parameters could have cytotaxonomic interest in some groups of species of this genus.

Key words: Chromosome asymmetry, cytogenetics, polyploidy, series *Farinosae,* subseries *Mimosa.*

Resumen: Morales, M., A. F. Wulff, R. H. Fortunato & L. Poggio. 2015. Primeros estudios cariotípicos en *Mimosa farinosa* y *M. velloziana* (Leguminosae, Mimosoideae). Bonplandia 24(1): 57-62.

Se presentan los primeros estudios de cariotipo en *Mimosa farinosa* y *M. velloziana.* Se cita por primera vez el número cromosómico de *M. farinosa,* 2n = 2x = 26 (*Mimosa* sección *Batocaulon* serie *Farinosae*) y se confirma el número cromosómico de *M. velloziana* var. *velloziana:* 2n = 4x = 52 (*Mimosa* sección *Mimosa* serie *Mimosa* subserie *Mimosa*). Se analizó la fórmula y los parámetros del cariotipo (longitud cromosómica e índices de asimetría A_1 y A_2). Se determinaron las fórmulas cariotípicas de *M. farinosa* (16m+10sm) y de *M. velloziana* var. *velloziana* (48m+4sm). *M. farinosa* posee un cariotipo más asimétrico y mayor tamaño cromosómico que *M. velloziana* var. *velloziana.* El índice A_1, el largo cromosómico total y el largo cromosómico por genoma haploide exhibieron diferencias significativas entre ambos taxones. Estos resultados concuerdan con diferencias halladas previamente entre otros representantes de la serie *Farinosae* y la serie *Mimosa* subserie *Mimosa,* lo que sugiere que algunos parámetros evaluados tienen interés citotaxonómico en grupos de especies de este género.

Palabras clave: Asimetría cromosómica, citogenética, poliploidía, serie *Farinosae,* subserie *Mimosa.*

[1] Instituto de Recursos Biológicos, CIRN-CNIA, INTA. N. Repetto & Los Reseros s.n. (1686) Hurlingham. Pcia. De Buenos Aires. República Argentina.
[2] Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). República Argentina.
[3] Facultad de Agronomía y Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Morón. Cabildo 134 (B1708JPD) Morón. Pcia. de Buenos Aires. República Argentina.
[4] Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Intendente Güiraldes y Costanera Norte (CI42EHA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina.
[5] Autor corresponsal, e-mail: mmorales0007@gmail.com

Introducción

El género *Mimosa* L. es uno de los más diversos entre los de la familia Leguminosae y la subfamilia Mimosoideae, y comprende actualmente más de 530 especies (Simon et al., 2011). Es un género mayormente de distribución pantropical y pan-subtropical, altamente diversificado en Sudamérica (Barneby, 1991). *Mimosa* fue dividido en cinco secciones: *Mimadenia* Barneby, *Habbasia* DC., *Batocaulon* DC., *Calothamnos* Barneby y *Mimosa.*

El número cromosómico básico postulado para este género es x = 13 (Isely, 1971; Goldblatt, 1981), y se han propuesto diferentes niveles de ploidía: 2n = 2x = 26, 2n = 3x = 39, 2n = 4x = 52, 2n = 6x = 78 y 2n = 8x = 104 (Seijo, 1993, 1999, 2000; Seijo & Fernández, 2001; Dahmer et al., 2011; Olkoski & Schifino-Wittmann, 2011; Morales et al., 2010, 2011, 2012, 2014a, b). La mayoría de las especies son diploides y tetraploides; en menor medida, se han hallado triploides, hexaploides y octoploides, especialmente en el S de Sudamérica (Seijo, 1993, 1999, 2000; Seijo & Fernández, 2001; Dahmer et al., 2011; Morales et al., 2014a, b). La poliploidía tiene una alta incidencia en este género, y aparece aproximadamente en un 30–35% de las especies estudiadas (Seijo, 2000; Dahmer et al., 2011; Morales et al., 2014a). Asimismo, parece darse con mayor frecuencia en los grupos diversificados en el área meridional de distribución y en las más elevadas latitudes (Seijo, 1999, 2000; Seijo & Fernández, 2001; Dahmer et al., 2011; Morales et al., 2014a).

Los estudios cariotípicos en *Mimosa* se han realizado en un número relativamente reducido de especies. Morales et al. (2011) estudiaron el cariotipo de siete especies del S de Sudamérica, de las secciones *Batocaulon* y *Mimosa.* En estos estudios se observó que existen diferencias en fórmula cariotípica y tamaño cromosómico entre especies de ambas secciones, si bien en líneas generales, el cariotipo es simétrico y el tamaño cromosómico pequeño. Recientemente, Marçal de Souza et al. (2012) estudiaron el cariotipo de *M. caesalpiniifolia* Benth., especie en la cual predominan los cromosomas metacéntricos y submetacéntricos y donde se ha informado la presencia de cromosomas B.

La escasez de estudios cariotípicos en este género se debe mayormente a las dificultades técnicas existentes para visualizar el centrómero y lograr una buena dispersión de células en metafase con las técnicas tradicionales de tinción, así como al tamaño reducido de los cromosomas (Seijo, 2000).

Con el objetivo de incrementar los estudios cariotípicos en *Mimosa,* y en particular en determinados grupos de especies donde estos análisis se iniciaron previamente, se presenta el número cromosómico, fórmula y parámetros del cariotipo de *M. farinosa* Griseb. y *M. velloziana* Mart. var. *velloziana.* Los datos son discutidos en el contexto de los últimos antecedentes citogenéticos en este género.

Materiales y Métodos

Los especímenes de herbario de referencia, así como los materiales para estudios citogenéticos, fueron obtenidos a partir de individuos cultivados en el Jardín Botánico “Arturo Ragonese”, en el caso de *M. farinosa,* y de individuos al estado silvestre recolectados en el N de Argentina, en el caso de *M. velloziana*.

Especímenes de referencia: Mimosa farinosa: **ARGENTINA. Buenos Aires:** Pdo. Hurlingham, cultivado en INTA-Castelar, procedencia N de Córdoba, 14-II-2006, *Morales 194* (BAB).

M. velloziana var. *velloziana:* **ARGENTINA. Salta:** Dpto. Orán, camino a Isla de Cañas, Finca San Ignacio, 30-IX-2005, *Morales et al. 125* (BAB); entre Agua Blanca y Angosto del Pescado, RP19, 19-IX-1991, *Guaglianone 2726* (SI, CTES 186422).

Semillas correspondientes al material de referencia de ambas especies (Tabla 1) germinaron en cajas de Petri a 25°C. Cuando las raicillas alcanzaron 1–2 cm de largo, se colocaron en 8-hidroquixinoleína 0,002 M durante 4–6 h, y se fijaron en solución 3:1 etanol absoluto:ácido acético glacial. Pasados 24–48 h se trasvasaron a etanol 75%y se conservaron a 5°C hasta el momento de su uso.

Para la confección de los preparados mitóticos, el material conservado en etanol se

trasvasó a una solución buffer 0,01 M ácido cítrico–citrato de sodio a PH = 4,6. Luego se transfirió a una solución enzimática constituida por 2 ml celulasa 2% (Ozonuka R-10, Merck KGaA, Damstadt, Alemania) y pectinasa líquida 20%, durante 90–120 min a 37°C. El material se lavó posteriormente con la solución buffer descripta. Finalmente, se realizó una tinción convencional con hematoxilina acética/ácido acético 45% y se aplicó la técnica de "squash". Se seleccionaron y fotografiaron al menos 5 células en prometafase/metafase por cada preparado, con un fotomicroscopio Leica LM2500.

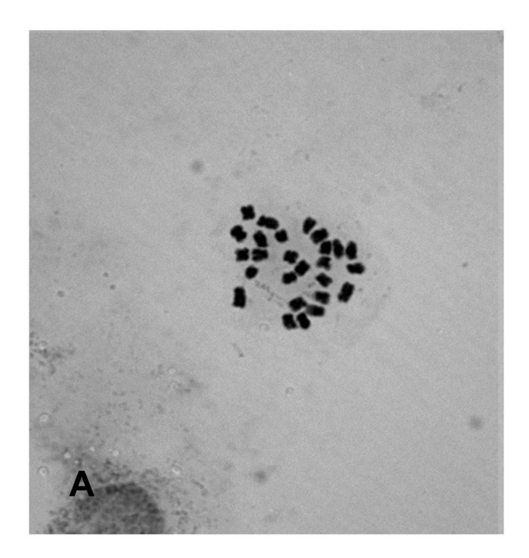
En las células seleccionadas se midió el Largo Cromosómico Total (LCT) y se calculó el Largo Cromosómico por Genoma Haploide (LCGH). La longitud total de cada cromosoma, así como la longitud de los brazos se midieron con el programa Micromeasure® (Reeves, 2001). Se confeccionó el cariotipo de ambos taxones, determinando su fórmula cariotípica. Se utilizó la nomenclatura de Levan et al. (1964) y los cromosomas fueron clasificados de acuerdo con el Índice Centromérico (Ic). Se calcularon los índices de asimetría A_1 y A_2 (Romero-Zarco, 1986).

Con el objeto de detectar diferencias significativas entre los taxones en los parámetros calculados (LCT, LCGH, A_1, A_2), se realizó un test *t* de Student para dos muestras independientes, utilizando el programa Infostat (Di Rienzo et al., 2009) con un nivel de significación del 5%.

Resultados

El número cromosómico determinado para *M. farinosa* es 2x = 2n = 26, mientras que el número cromosómico determinado para *M. velloziana* var. *velloziana* es 2n = 4x = 52 (Fig. 1). La fórmula cariotípica observada en *M. farinosa* fue 16m+10sm, mientras que la fórmula cariotípica observada en *M. velloziana* var. *velloziana* fue 48m+4sm. Este último taxón es tetraploide, y si bien no se conoce su origen, fue posible agrupar los cromosomas de a pares debido a su número y morfología (Fig. 2; Tabla 1).

En cuanto a parámetros de tamaño cromosómico, *M. farinosa* posee cromosomas de mayor tamaño que *M. velloziana* var. *velloziana,* ya que existen diferencias significativas entre ambos taxones tanto en LCT como en LCGH; éste último parámetro posee mayor valor comparativo entre diploides y poliploides debido a que elimina la incidencia de los diferentes niveles de ploidía. En cuanto a los índices de asimetría, el índice A_1 mostró diferencias significativas entre ambos taxones, mientras que no se observaron diferencias al analizar el índice A_2 (Tabla 1).



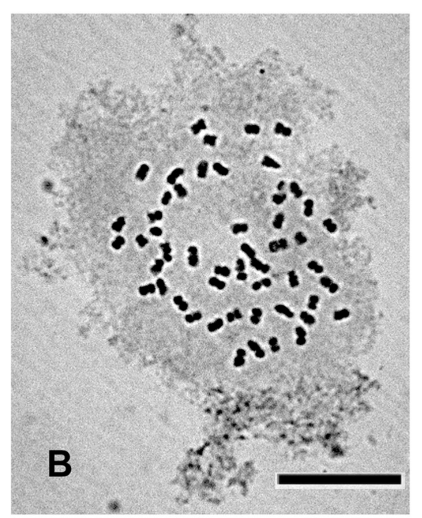


Fig. 1. Células somáticas de *Mimosa* en metafase. A: *M. farinosa,* 2n = 2x = 26. B: *M. velloziana* var. *velloziana,* 2n = 4x = 52. La barra indica 10 µm.

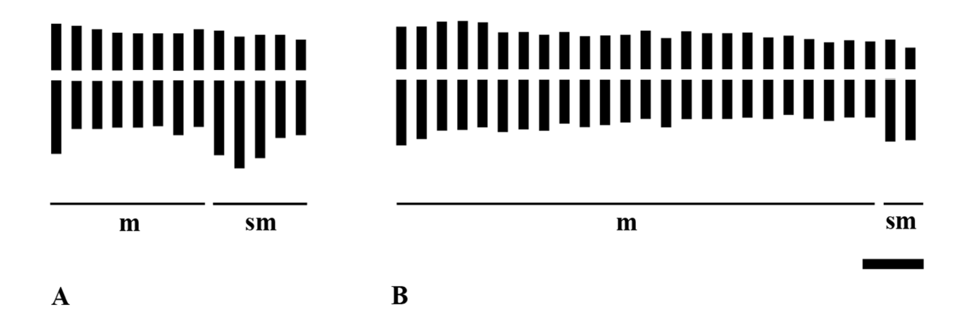


Fig. 2. Cariogramas de especies de *Mimosa.* A: *M. farinosa,* 2n = 2x = 26. B: *M. velloziana* var. *velloziana,* 2n = 4x = 52; m = pares de cromosomas metacéntricos; sm = pares de cromosomas submetacéntricos. La barra indica 1µm.

Tabla 1. Número cromosómico, fórmula y parámetros del cariotipo en *Mimosa farinosa* y *M. velloziana* var. *velloziana.*

	M. farinosa	***M. velloziana* var. *velloziana***	**Estadístico *t* obtenido**	***valor p***
Número cromosómico	2n = 2x = 26	2n = 4x = 52	-	-
LCT (µm)	40,56±7,68	58,14±5,00	-3,65	0,0045
LCGH (µm)	20,28±3,74	14,54±1,25	2,48	0,0328
Fórmula cariotípica	16m+10sm	48m+4sm	-	-
A_1	0,39±0,01	0,20±0,02	13,54	0,0009
A_2	0,20±0,04	0,17±0,02	1,15	0,2784

Discusión

El número cromosómico 2n = 2x = 26 de *M. farinosa* es inédito, mientras el número cromosómico 2n = 4x = 52 de *M. velloziana* var. *velloziana* es una confirmación de recuentos anteriores (Seijo, 1999; Dahmer et al., 2011). Al igual que la mayor parte de los antecedentes mencionados en la introducción, los números cromosómicos encontrados concuerdan con que x = 13 sería el número cromosómico básico del género *Mimosa.*

Mimosa farinosa es una especie endémica del Chaco Sudamericano y áreas adyacentes (Barneby, 1991). Pertenece a la sección *Batocaulon* serie *Farinosae* Barneby, un grupo de árboles y arbustos xerófitos de las áreas semiáridas templadas y subtropicales del S de Sudamérica. Este grupo comprende cuatro especies (Barneby, 1991); en tres de ellas, *M. detinens* Benth., *M. ostenii* Burkart y *M. farinosa,* se conoce su número cromosómico (2n = 2x = 26). El cariotipo de *M. farinosa* exhibe gran similitud con el de las otras especies de *Farinosae* previamente estudiadas, *M. detinens* y *M. ostenii* (Morales et al., 2011). Las tres poseen los cariotipos más asimétricos entre las especies de *Mimosa* estudiadas hasta el momento, así como los cromosomas de mayor tamaño. En la serie *Farinosae,* la fórmula cariotípica incluye sólo 7–9 pares de cromosomas metacéntricos; el resto son submetacéntricos; la LCT es mayor a 40 µm y los índices de asimetría, son relativamente altos en comparación con el resto de las especies estudiadas de la sección *Mimosa* (Morales et al., 2011; Tabla 1). Los altos valores en parámetros de tamaño cromosómico de las especies de la serie *Farinosae* podrían corresponder a un mayor tamaño del genoma en relación al resto de las especies estudiadas de *Mimosa.*

La asimetría intracromosómica en *M. farinosa, M. detinens* y *M. ostenii* (Morales et al., 2011) exhibe mayores diferencias con otras especies de *Mimosa* que la intercromosómica. Los valores del índice A_1 en estas tres especies

oscilan en el rango 0,34–0,39, mientras que en casi todas las demás especies estudiadas del género son menores a 0,3 (Morales et al., 2011). En cambio, el índice de asimetría A_2 en la serie *Farinosae* oscila en el rango habitual de las especies de *Mimosa* estudiadas hasta el momento: 0,14–0,27 (Morales et al., 2011, 2014a, b). Como otra característica importante que se repite en las restantes especies del género estudiadas, no se han encontrado hasta el momento cariotipos bimodales, lo cual explica que los valores de A_2 son muy pequeños.

Mimosa velloziana var. *velloziana* pertenece a la sección *Mimosa* serie *Mimosa* subserie *Mimosa,* y es un taxón ampliamente distribuido en Sudamérica, Mesoamérica y México (Barneby, 1991; Morales & Fortunato, 2010). La subserie *Mimosa* posee ocho especies actualmente reconocidas, seis de las cuales crecen en Sudamérica (Barneby, 1991; Morales & Fortunato, 2010; Morales et al., 2012), con una gran diversidad morfológica y alta frecuencia de poliploides (Morales et al., 2010, 2012). En esta especie, los valores de los índices A_1, A_2 y la alta proporción de cromosomas metacéntricos, son similares a los de otras especies diploides de *Mimosa* sección *Mimosa,* como *M. xanthocentra* Mart. y *M. debilis* Humb. & Bonpl. ex Willd. (Morales et al., 2011). En estas especies se observa un índice A_1 menor a 0,3; un índice A_2 menor a 0,25 y en la fórmula cariotípica alrededor de las tres cuartas partes de los cromosomas son metacéntricos. El LCGH en las especies de la sección *Mimosa* generalmente es menor a 20 µm, tanto en diploides como en poliploides (Morales et al., 2014a). Esto muestra en general un cariotipo muy simétrico y con cromosomas pequeños en comparación con algunos representantes de la sección *Batocaulon,* en especial de la serie *Farinosae.*

Las diferencias estadísticamente significativas en LCGH y A_1 permitirían distinguir a ambos taxones aquí estudiados, y en concordancia con los trabajos previos (Morales et al., 2011) diferenciar especies de la serie *Farinosae* y la subserie *Mimosa.* Hasta el momento, los estudios cariotípicos en especies de *Mimosa* sugieren que algunos parámetros serían de interés citotaxonómico en el género, aunque su relevancia debe confirmarse con estudios en un amplio rango de taxones.

Agradecimientos

Agradecemos al personal del Laboratorio de Citogenética, Ecología y Evolución (LACyE) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (Universidad de Buenos Aires) por su importante colaboración en el trabajo de rutina del laboratorio; asimismo, a los revisores del trabajo por sus valiosas sugerencias. Este trabajo recibió financiamiento a partir de los subsidios de la Universidad de Buenos Aires (UBA X178), CONICET (PIP 5560, 5927), Agencia de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 0821-2011) y Universidad de Morón (PID B06-001/06, 06-001/08 y 06-005/12).

Bibliografía

BARNEBY, R. C. 1991. Sensitivae Censitae: A description of the genus *Mimosa* Linnaeus (Mimosaceae) in the New World. Mem. New York Bot. Gard. 65: 1–835.

DAHMER N., M. F. SIMON, M. T. SCHIFINO–WITTMANN, C. E. HUGHES, S. T. S. MIOTTO & J. C. GIULIANI. 2011. Chromosome numbers in the genus *Mimosa* L.: cytotaxonomic and evolutionary implications. Plant Syst. Evol. 291: 211–220.

DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZÁLEZ, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. 2009. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

GOLDBLATT, P. 1981. Cytology and the phylogeny of Leguminosae. En POLHILL, R. M. & P. H. RAVEN (eds.), Advances of Legume Systematics 2, pp. 427–464. Royal Botanic Gardens, Kew.

ISELY, D. 1971. Legumes of the United States. IV. *Mimosa.* Am. Midl. Nat. 85: 410–424.

LEVAN, A., K. FREDGA & A. A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201–219.

MARÇAL DE SOUZA, S., A. CAMPOS REIS & L. FACIO VICCINI. 2012. Polyploidy, B chromosomes, and heterochromatin characterization of *Mimosa* caesalpiniifolia Benth. (Fabaceae-Mimosoideae). Tree Genet. Genomes 9: 613–619.

MORALES, M. & R. H. FORTUNATO. 2010. Novedades taxonómicas y nomenclaturales en el género *Mimosa* (Leguminosae) para el S de Sudamérica. Candollea 65: 169–184.

MORALES, M., A. F. WULFF, R. H. FORTUNATO & L. POGGIO. 2010. Chromosome and morphological studies in the *Mimosa debilis* complex (Mimosoideae, Fabaceae) from Southern

South America. Austr. J. Bot. 58: 12–22.

MORALES, M, A. F. WULFF, R. H. FORTUNATO & L. POGGIO. 2011. Karyotype studies in *Mimosa* (Mimosoideae, Leguminosae) from Southern South America and ecological and taxonomic relationships. Caryologia 64: 203–214.

MORALES, M., O. S. RIBAS & J. SANTOS-SILVA. 2012. A new polyploid species of *Mimosa* (Leguminosae, Mimosoideae) from the Highlands of Southern Brazil. Syst. Bot. 37: 399–403.

MORALES, M., A. F. WULFF, R. H. FORTUNATO & L. POGGIO. 2014a. Chromosome studies in southern species of *Mimosa* (Fabaceae, Mimosoideae) and their taxonomic and evolutionary inferences. Pl. Syst. Evol. 300: 803–817.

MORALES, M., L. ARENAS, M. I. REMIS, A. F. WULFF, L. POGGIO & R. H. FORTUNATO. 2014b. Morphometric and cytogenetic studies in *Mimosa diversipila* (Mimosoideae, Leguminosae) and their taxonomic and evolutionary inferences. Syst. Bot. 39: 875–883.

OLKOSKI, D. & M. T. SCHIFINO WITTMANN. 2011. Cytogenetics of *Mimosa bimucronata* (DC.) O. Kuntze (Mimosoideae, Leguminosae): chromosome number, polysomaty and meiosis. Crop Breed. Appl. Biotechnol. 11: 27–35.

REEVES, A. 2001. MicroMeasure: A new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. Genome 44: 359–443.

ROMERO-ZARCO, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35: 526–530.

SEIJO, G. J. 1993. Citogenética en especies argentinas del género *Mimosa* (Leguminosae). Bol. Soc. Argent. Bot. 29: 219–223.

SEIJO, G. J. 1999. Chromosome studies in Argentinian species of *Mimosa*. Cytologia 64: 241–246.

SEIJO, G. J. 2000. Números cromosómicos en especies de *Mimosa* de Paraguay. Bonplandia 10: 163–167.

SEIJO, G. J. & A. FERNÁNDEZ. 2001. Chromosome numbers of some southernmost species of *Mimosa* L. (Leguminosae). Cytologia 66: 19–34.

SIMON, M. F., R. GRETHER, L. P. QUEIROZ, T. E. SÄRKINEN, V. F. DUTRA & C. E. HUGHES. 2011. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): toward a phylogeny of the sensitive plants. Am. J. Bot. 98: 1201–1221.

Original recibido el 5 de marzo de 2015; aceptado el 30 de abril de 2015.